

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

①⑪ N° de publication :

(A n'utiliser que pour
le classement et les
commandes de reproduction.)

2.147.112

②① N° d'enregistrement national :

(A utiliser pour les paiements d'annuités,
les demandes de copies officielles et toutes
autres correspondances avec l'I.N.P.I.)

72.26432

①⑬
DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION

1^{re} PUBLICATION

- ②② Date de dépôt 21 juillet 1972, à 15 h 46 mn.
④① Date de la mise à la disposition du
public de la demande..... B.O.P.I. — «Listes» n. 10 du 9-3-1973.
- ⑤① Classification internationale (Int. Cl.) C 08 b 29/00//B 65 d 65/00; C 08 b 25/00.
- ⑦① Déposant : Société dite : HAYASHIBARA BIOCHEMICAL LABORATORIES,
INCORPORATED, résidant au Japon.

Titulaire : *Idem* ⑦①

- ⑦④ Mandataire : Cabinet Beau de Loménie, Ingénieurs-Conseils, 55, rue d'Amsterdam,
Paris (8).
- ⑤④ Articles moulés en pullulanne et leur application.

⑦② Invention de :

- ③③ ③② ③① Priorité conventionnelle : Demandes de brevets déposées au Japon le 23 juillet 1971,
n. 54.579/1971 et le 30 octobre 1971, n. 85.960/1971 au nom de la demanderesse.

La présente invention concerne le pullulanne et, en particulier, des articles moulés en pullulanne et leur utilisation.

Le pullulanne est un polysaccharide consistant en unités maltotriose reliées par des liaisons α -1,6. Comme décrit par H. Bender et col. (Biochim. Biophys. Acta 36 [1959], p. 309) et S. Ueda (Kogyo Kagaku Zasshi 67 [1964], p. 757), le pullulanne est produit par des souches de Pullularia ou de Dematium poussant sur des milieux de culture classiques et on le récupère facilement d'un milieu de culture à cause de son insolubilité dans le méthanol. Bien que cette substance soit connue depuis relativement
10 longtemps, elle n'a pas trouvé jusqu'à présent d'application pratique.

La demanderesse a découvert selon l'invention que le pullulanne est facilement transformé en articles moulés ayant des propriétés intéressantes. La substance est soluble dans l'eau, comestible et biodégradable. On peut le transformer en articles moulés en le dissolvant dans l'eau,
15 en donnant à la solution aqueuse la forme désirée et en séparant la totalité ou la majeure partie de l'eau. On prépare ainsi des pellicules en coulant une solution aqueuse de pullulanne sur un substrat horizontal plat et en évaporant l'eau. On produit d'une manière analogue sensiblement classique d'autres objets à parois minces ayant des dimensions très
20 supérieures à l'épaisseur de l'article. Le pullulanne est une matière pseudo-thermoplastique et peut donc être moulé par compression ou extrudé à température élevée.

Les pellicules et feuilles de pullulanne sont transparentes et incolores et les surfaces libres formées par évaporation de l'eau d'une
25 solution de pullulanne ont un brillant élevé. La résistance à la traction des articles moulés en pullulanne est du même ordre de grandeur que celle de la cellulose régénérée (cellophane) et peut être supérieure, à une faible teneur en humidité. Les pellicules et feuilles en pullulanne sont pliables et ont une résistance élevée au pliage. Les propriétés mécaniques et
30 optiques ne sont pas altérées par le vieillissement et le stockage à des degrés d'humidité relative très élevés ou très faibles. Bien que le matériau soit soluble même dans l'eau froide, il ne devient pas collant en atmosphère humide. Il ne devient pas cassant à des températures aussi basses que moins 10°C. Il n'est pas altéré par l'huile et il est insoluble dans
35 de nombreux solvants organiques courants. Il ne conserve pas les charges d'électricité statique et ne supporte pas facilement la croissance des micro-organismes.

Même de très minces pellicules de pullulanne sont presque imperméables à l'oxygène de l'air. La substance est relativement perméable à la vapeur d'eau.

Comme il ressort des propriétés énoncées ci-dessus, les
5 pellicules, revêtements, feuilles et analogues en pullulanne sont des matériaux d'emballage de valeur, en particulier pour les matières qui doivent être protégées contre l'oxygène atmosphérique. Si la protection contre l'humidité atmosphérique est également nécessaire, elle peut facilement être apportée par une enveloppe secondaire d'autres polymères disponibles, tels que le
10 polyéthylène. Des revêtements appropriés en pullulanne sont préparés par pulvérisation de l'objet à protéger avec une solution aqueuse de pullulanne, puis évaporation ou élimination de l'eau de toute autre manière. Comme il apparaîtra ci-après, une enveloppe gelée, préparée par refroidissement rapide d'une solution aqueuse de pullulanne, a des propriétés voisines de celles
15 d'une feuille de pullulanne sensiblement anhydre.

Le pullulanne est compatible avec les autres polymères feuillogènes solubles dans l'eau, tels q u ' amylose, alcool polyvinylique et gélatine, et les articles moulés consistant en mélanges de pullulanne avec ces autres ingrédients feuillogènes sont préparés de la même manière
20 que les articles en pullulanne décrits ci-dessus, c'est-à-dire par moulage par compression d'un mélange intime en particules des ingrédients, ou par évaporation de l'eau d'une solution aqueuse courante. Les propriétés intéressantes du pullulanne sont conservées dans une mesure importante si les mélanges ne contiennent pas plus de 120 % d'amylose, 100 % d'alcool
25 polyvinylique et/ou 150 % de gélatine, par rapport au poids du pullulanne dans le mélange. Les effets des ingrédients feuillogènes supplémentaires sur les propriétés mécaniques, optiques et physiques du pullulanne sont illustrés ci-après par des exemples particuliers.

Les articles consistant essentiellement en pullulanne ou
30 en mélanges de pullulanne avec l'amylose, l'alcool polyvinylique et/ou la gélatine peuvent être plastifiés au moyen de polyalcools. Bien que n'importe quel polyalcool soit efficace comme plastifiant pour les articles moulés en pullulanne ou ses mélanges décrits ci-dessus, on a constaté que le maltitol, le sorbitol et le glycérol sont particulièrement efficaces. Les
35 qualités d'alcools polyvinyliques solubles dans l'eau peuvent également agir comme plastifiants. Les quantités de plastifiant utilisées dépendent de la nature des ingrédients polymères, du résultat recherché et de la nature

du plastifiant. En général, on n'observe pas de changement notable dans les propriétés avec moins de 1 % de plastifiant par rapport au poids de l'article moulé et certaines des propriétés souhaitables du pullulanne sont perdues lorsque la concentration du plastifiant dépasse 20 % du poids de l'article moulé, à moins que la gélatine soit présente en quantités relativement grandes.

Les pellicules et revêtements en pullulanne sont supérieurs aux pellicules en amylose par leur résistance au vieillissement, leurs propriétés optiques, leur imperméabilité à l'oxygène et leur aptitude à se dissoudre rapidement dans l'eau sans laisser de trace. De manière caractéristique, une pellicule en pullulanne jusqu'à une épaisseur de 0,2 mm se dissout au contact de l'eau à 30°C en une fraction de minute, et la vitesse de dissolution augmente avec la température de l'eau. Elle n'est pas notablement réduite par mélange des matériaux feuillogènes mentionnés ci-dessus dans les quantités indiquées.

Le degré de polymérisation et le poids moléculaire du pullulanne varient selon la souche spécifique de Pullularia utilisée pour préparer le polysaccharide. Le pullulanne ayant un poids moléculaire d'environ 250.000 s'est révélé produire des articles moulés ayant une résistance mécanique tout à fait avantageuse, tout en produisant des solutions aqueuses de viscosité relativement élevée. Une partie de la résistance mécanique est perdue dans les pullulannes de poids moléculaire plus faible, par exemple 50.000, mais il est facile de préparer des solutions aqueuses plus concentrées. Les solutions aqueuses utilisées pour fabriquer les pellicules et autres articles en pullulanne, principalement en deux dimensions, contiennent de préférence 3 à 10 % de pullulanne et peuvent contenir en outre de l'amylose, de l'alcool polyvinylique et/ou de la gélatine.

On prépare très avantageusement des solutions relativement concentrées de pullulanne au moyen de pullulanne récupéré à partir d'un milieu de culture sans séchage. Ce pullulanne humide se disperse facilement dans l'eau chaude. Le pullulanne fortement séché en morceaux d'épaisseur notable peut nécessiter une température atteignant 120°C ou même plus pour se dissoudre rapidement.

On peut couler des pellicules à partir de solutions aqueuses contenant 5 % de pullulanne d'un poids moléculaire de 250.000 sur des plaques lisses de verre ou de métal, de manière classique, et l'on peut ajuster la viscosité de la solution de coulage en faisant varier la concentration et/ou la température pour produire des pellicules ayant l'épaisseur

à sec désirée. Le revêtement liquide initialement coulé peut être séché par un courant d'air chaud dont la température n'est pas essentielle.

- On n'observe pas de trouble même à une température de l'air relativement élevée. Les solutions visqueuses de pullulanne ont tendance à absorber
- 5 de l'air en petites bulles, qui doivent être éliminées par application du vide au-dessus de la solution de coulage, si l'on veut produire une pellicule très mince sans trous d'épingle et sans taches ou défauts visibles.

- Bien entendu, on peut appliquer au pullulanne et à ses mélanges décrits ci-dessus d'autres procédés classiques de formation
- 10 de pellicules à partir de solutions d'ingrédients feuillogènes dans des solvants volatils. On prépare facilement par coulage des pellicules ayant une épaisseur de 0,01 à 0,2 mm.

- Une pellicule de pullulanne de 0,1 mm d'épaisseur transmet, par exemple, 95 % de la lumière solaire incidente, elle a une
- 15 résistance à la traction de 7 à 8 kg/mm², un allongement à la rupture de 8 à 20 % et une résistance au pliage de 800 à 900 cycles de pliage double. Après stockage pendant un mois à 60 % d'humidité relative et 25°C, la résistance à la traction est inchangée, l'allongement peut tomber
- 20 à 8-11 % et la résistance au pliage à 700-750 cycles à 30°C et 550-600 cycles à -10°C. Ces valeurs sont évidemment très supérieures à celles des pellicules en amylose, seules autres pellicules connues comme étant solubles dans l'eau au moins dans une certaine mesure, résistantes à l'huile et comestibles.

- La perméabilité à l'oxygène d'une pellicule mince de pullulanne est de 1-2 ml/m²/jour à 29±1°C, déterminée selon la méthode
- 25 ASTM D-1434.

- La teneur en humidité à l'équilibre des pellicules de pullulanne varie relativement peu avec les variations d'humidité atmosphérique ambiante, et la matière ne devient pas collante à des valeurs d'humidité
- 30 relative atteignant 80 %.

- Lorsqu'on utilise l'alcool polyvinylique en mélange avec le pullulanne comme agent feuillogène, on choisit de préférence un alcool polyvinylique ayant une viscosité de 10-27 cps en solution aqueuse à 4 %
- à 20°C et un indice de saponification de 87-98 %. L'amylose, lorsqu'on
- 35 le mélange avec le pullulanne, est de préférence exempt ou sensiblement exempt d'amylopectine. La gélatine augmente le module d'élasticité des pellicules de pullulanne, et des quantités relativement grandes de gélatine

peuvent rendre la pellicule un peu cassante, ce que l'on surmonte par l'utilisation de plastifiants, avantageusement jusqu'à 30 % de plastifiant, dans les pellicules consistant en pullulanne et des quantités égales ou supérieures de gélatine. Dans d'autres conditions, une quantité de plastifiant supérieure à 20 % ne donne pas les meilleures propriétés mécaniques.

Lorsqu'il faut conserver dans leur plus grande mesure la solubilité à l'eau, la stabilité pendant une durée prolongée et dans une large gamme de température, en particulier à basse température, la transparence élevée, le brillant élevé et l'imperméabilité à l'oxygène qui sont caractéristiques des pellicules de pullulanne pur, la quantité totale d'amylose, d'alcool polyvinylique et de gélatine dans une pellicule ne doit pas dépasser 50 % du poids de pullulanne.

En raison de leur bonne flexibilité à basse température et de leur imperméabilité à l'oxygène, les pellicules de pullulanne et de mélanges à base de pullulanne sont éminemment appropriées pour l'emballage des aliments congelés. La résistance aux huiles des pellicules les rend particulièrement utiles pour l'emballage du beurre, du fromage et d'autres aliments gras. Les produits pharmaceutiques et les enzymes, qui sont détériorés en contact avec l'oxygène atmosphérique, peuvent être conservés pendant des périodes prolongées lorsqu'on les enveloppe dans des pellicules de pullulanne ou de mélanges à base de pullulanne.

On peut produire des plaques et autres articles moulés, tels que filaments et fibres, en utilisant la pseudo-thermoplasticité du pullulanne. Le pullulanne pur contenant moins d'environ 25 % d'humidité peut être moulé par compression ou extrudé à 100-120°C sous des pressions de 100 à 150 kg/cm². Il peut être nécessaire de modifier la température et la pression en présence d'autres polymères, tels qu'amylose ou alcool polyvinylique, et en présence de plastifiants. On a pu mouler et extruder avec succès des mélanges pulvérulents de pullulanne avec l'amylose et/ou l'alcool polyvinylique contenant 10 à 20 % d'humidité et pas plus de 5 % de plastifiant.

Les fibres ou filaments ainsi obtenus ont des applications directes limitées en raison de leur solubilité dans l'eau. On peut les rendre résistants à l'eau de manière connue par traitement avec le glyoxal ou le formaldéhyde, ou en les munissant d'un revêtement imperméable.

Les colorants du coton sont généralement absorbés par le pullulanne et l'on peut produire des articles colorés de pullulanne à partir de solutions aqueuses colorées ou par moulage de mélanges sensiblement anhydre contenant des pigments. Le pullulanne peut être
5 utilisé avantageusement dans l'apprêt du textile pour réduire la formation d'électricité statique sur les fibres, en particulier les fibres synthétiques, pendant le traitement.

Les exemples suivants illustrent l'invention sans toutefois en limiter la portée.

10 EXEMPLE 1

On stérilise pendant 20 mn sous $0,7 \text{ kg/cm}^2$ un milieu de culture aqueux contenant 10 % en poids de saccharose, 0,5 % en poids de K_2HPO_4 , 0,1 % en poids de NaCl, 0,02 % en poids de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,06 % en poids de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ et 0,04 % en poids d'extrait de levure, puis on le laisse
15 refroidir. On l'inocule au moyen d'une boucle de platine avec une culture de *Dematium pullulans* IFO 4464 préalablement produite sur un milieu à 1,5 % de gélose ayant, par ailleurs, la même composition en une semaine à 24°C . On fait incubé le milieu inoculé à 27°C pendant une semaine en agitant.

20 On sépare ensuite les cellules microbiennes par centrifugation, et on mélange le liquide surnageant avec un égal volume de méthanol pour précipiter le pullulanne formé par fermentation. Le pullulanne est blanchâtre et facilement recueilli par décantation, on le lave au méthanol et on le sèche. Il a un poids moléculaire moyen de 250.000 et une rotation
25 spécifique $[\alpha]_D^{20} = 195^\circ$. On l'identifie par sa décomposition en maltotriose par la pullulannase.

Ce pullulanne est dénommé ci-après pullulanne A.

EXEMPLE 2

On stérilise comme décrit à l'exemple 1 un milieu aqueux
30 de culture contenant 3 % en poids de glucose, 0,12 % en poids d'urée, 0,1 % en poids d'extrait de levure, 0,5 % en poids de K_2HPO_4 , et 0,08 % en poids de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, on l'inocule avec une souche de *Pullularia pullulans* IFO 6453, et on incube à 27°C pendant une semaine en agitant ; le milieu se transforme en une masse mucilagineuse, dont on sépare les cellules
35 et on précipite le pullulanne au moyen du méthanol.

Le produit ainsi obtenu a un poids moléculaire de 60.000 et une rotation optique $[\alpha]_D^{20} = 171^\circ$. Il donne du maltotriose par

décomposition par la pullulannase et on le désigne ci-après sous le nom de pullulanne B. On suppose que son poids moléculaire plus faible est dû à l'amylase produite par la souche microbienne utilisée et une période de culture plus longue aurait produit un pullulanne de degré de polymérisation encore plus faible.

EXEMPLE 3

On disperse du pullulanne A dans l'eau à 90°C en agitant pour produire une solution à 5 %, tous les pourcentages s'entendant en poids sauf indication contraire. On refroidit la solution à 52°C, on en chasse l'air par exposition au vide, on la coule sur une plaque d'acier propre en épaisseur uniforme et on sèche dans un courant d'air à 70°C.

La pellicule ainsi obtenue a une épaisseur de 0,02 mm, elle est transparente, incolore, brillante, flexible, non collante et rigide. De petits morceaux placés dans l'eau à 30°C gonflent immédiatement, se désagrègent et disparaissent par dissolution en environ 20 s.

Sa résistance à la traction est de $7,1 \text{ kg/mm}^2$, l'allongement à la rupture 10 %, et la résistance au pliage est de 700 cycles dans les conditions normalisées. On n'observe pas de changement mesurable de l'allongement à la rupture et de la résistance au pliage après stockage pendant 1 mois à 60 % d'humidité relative. La résistance à la traction est légèrement améliorée et s'élève à $7,2 \text{ kg/mm}^2$.

EXEMPLE 4

On disperse du pullulanne B, en agitant, dans l'eau chaude pendant 20 mn pour produire une solution homogène à 6 %. On ajoute à la solution, en agitant, 2 % de maltitol, par rapport au poids du pullulanne. On chasse l'air de la solution, on la coule sur une plaque métallique propre à 60°C et on la sèche dans un courant d'air à 80°C, pour obtenir une pellicule molle de 0,02 mm d'épaisseur, dont la transparence et le brillant sont très bons et seulement un peu inférieurs à ceux de la pellicule préparée dans l'exemple 1, tandis que la pellicule est légèrement plus soluble dans l'eau. La résistance à la traction est de $6,5 \text{ kg/mm}^2$, l'allongement à la rupture de 21 % et la résistance au pliage de 780 cycles. Ces propriétés sont sensiblement inchangées après stockage pendant un mois à 60 % d'humidité relative.

Une augmentation de la concentration du maltitol à 5 % diminue la raideur et la rigidité de la pellicule, tout en augmentant fortement son extensibilité. Le matériau plus plastifié se révèle approprié

pour fabriquer des capsules molles pour l'utilisation pharmaceutique et pour des revêtements. On obtient des produits assez voisins lorsque l'on remplace le maltitol par des quantités égales de glycérol ou de sorbitol, mais la surface perd un peu de sa régularité.

5 EXEMPLE 5

On prépare une solution aqueuse à 7 % de pullulanne A, en agitant, à 100°C. On chauffe à 80°C une solution aqueuse à 7 % de gélatine jusqu'à ce qu'elle soit homogène. On mélange 3 parties de la solution de pullulanne et 1 partie de la solution de gélatine et on ajoute
10 du maltitol et du sorbitol en quantités de 1 % chacun, par rapport au poids des ingrédients feuillogènes, le pullulanne et la gélatine. On chasse l'air de la solution, on la coule sur une plaque métallique à 70°C et on sèche dans un courant d'air à 80°C.

La pellicule ainsi obtenue a une épaisseur de 0,02 mm,
15 une transparence de 92 % au lieu de 95 % pour celle de l'exemple 3, et un bon brillant. Elle se dissout dans l'eau à 30°C en 20-21 s, elle a une résistance à la traction relativement élevée de 7,5 kg/mm², combinée avec un allongement à la rupture de 13 % et une résistance au pliage de 560 cycles. Ces propriétés ne sont pas sensiblement affectées par le stockage pendant
20 un mois à 60 % d'humidité relative à 25°C. La perméabilité à l'oxygène de la pellicule est légèrement inférieure à celle de la pellicule de l'exemple 3.

EXEMPLE 6

On chauffe dans l'eau à 30°C pendant 10 mn un amidon de
25 maïs hydrolysé par l'isoamylase (teneur en amylose 70 %) pour produire une solution à 5 %. On mélange à chaud 4 parties d'une solution à 5 % de pullulanne A, préparée comme à l'exemple 3, et une partie de la solution d'amylose, puis on ajoute 1 % de maltitol, par rapport au poids des ingrédients feuillogènes. On chasse l'air de la solution et on forme une
30 pellicule en séchant rapidement une couche coulée de la solution.

La pellicule séchée a une épaisseur de 0,02 mm, une transparence de 93 % et un très bon brillant. Elle se dissout dans l'eau à 30°C en 20-23 s, elle a une résistance à la traction de 6,8 kg/mm², un allongement à la rupture de 15 %, et une résistance au pliage de
35 680 cycles. Ces propriétés mécaniques ne sont pas affectées par stockage pendant un mois à 60 % d'humidité relative.

EXEMPLE 7

On hydrolyse de l'amidon gélatinisé et on le soumet ensuite à l'isoamylase pour produire une amylose dont 50 % a un degré de polymérisation inférieur à 50. On mélange des solutions aqueuses à 8 % de pullulanne B et de l'amylose à bas degré de polymérisation dans le rapport de 10:1 à température élevée, et on chasse l'air du mélange pratiquement limpide et on le coule sur une plaque métallique.

La pellicule produite par séchage a une épaisseur de 0,02 mm, une transparence de 93 % et un bon brillant, elle se dissout dans l'eau à 30°C dans le temps particulièrement court de 18 s. Sa résistance à la traction de 6,5 kg/mm² s'abaisse à 6,1 kg/mm², par stockage pendant un mois à 25°C et 60 % d'humidité relative, mais l'allongement à la rupture et la résistance au pliage sont inchangés à 11 % et 650 cycles respectivement.

EXEMPLE 8

On mélange une solution à 5 % de pullulanne A dans l'eau chaude avec 15 % d'amylose par rapport au poids du pullulanne. On prépare l'amylose par hydrolyse d'une solution d'amidon liquéfié par l'isoamylase, et en précipitant la fraction contenant plus de 50 % d'amylose ayant un degré de polymérisation au moins égal à 50. On chauffe la solution mixte et on agite jusqu'à ce qu'elle soit homogène, et on ajoute du maltitol et du sorbitol comme plastifiants en quantités respectives de 1 % par rapport aux ingrédients feuilligènes. On chasse l'air de la solution, on la coule sur une plaque métallique et on la sèche comme dans les exemples précédents.

La pellicule, d'une épaisseur de 0,02 mm, a une transparence de 93 %, un bon brillant et une bonne solubilité dans l'eau à 30°C (20-22s), une résistance à la traction de 6,5 kg/mm², un allongement à la rupture de 20 % et une résistance au pliage de 720 cycles. Le stockage pendant un mois à 60 % d'humidité relative est sans effet sur les propriétés mécaniques.

EXEMPLE 9

On mélange un alcool polyvinylique (PVA) ayant une viscosité de 20 cps et un indice de saponification de 88 avec une solution aqueuse à 4 % de pullulanne A, à raison de 30 % par rapport au pullulanne. Il se forme une solution homogène par chauffage et agitation. On chasse l'air et on coule la solution sur une plaque métallique, et on la sèche pour obtenir une pellicule de 0,02 mm d'épaisseur.

La transparence de la pellicule est de 94 %, son brillant est élevé et elle se dissout dans l'eau à 30°C en 20-22 s. Sa résistance

à la traction est de $6,6 \text{ kg/mm}^2$ et son allongement à la rupture de 16 % et ne sont pas notablement modifiés par stockage pendant un mois à 60 % d'humidité relative, mais la résistance au pliage augmente de 670 à 750 cycles.

5 En raison de sa solubilité, le mélange intime de PVA et de pullulanne est particulièrement bien approprié pour préparer une solution de revêtement, dans laquelle on plonge des noix avant de les sécher. Les noix ainsi revêtues conservent leur goût, leur consistance et leur parfum pendant une durée prolongée.

EXEMPLE 10

10 On mélange une solution aqueuse à 5 % de pullulanne B avec de l'alcool polyvinylique ayant une viscosité de 28 cps et un indice de saponification de 89, en quantité de 10 % par rapport au poids du pullulanne B. Lorsque le PVA s'est totalement dissous par chauffage et agitation, on ajoute du maltitol à raison de 1 % par rapport aux ingrédients feuillogènes, et on chasse l'air de la solution puis on la coule sur une plaque métallique.

20 La pellicule formée après séchage a une transparence de 94 %, un bon brillant et se dissout bien dans l'eau chaude. Sa résistance à la traction est de $6,5 \text{ kg/mm}^2$, son allongement à la rupture de 14 % et sa résistance au pliage de 620 cycles. Ces propriétés ne sont pas affectées par stockage pendant un mois à 60 % d'humidité relative. La pellicule a une perméabilité à l'air particulièrement faible.

EXEMPLE 11

25 On mélange une solution à 5 % de pullulanne A dans l'eau avec 20 % d'alcool polyvinylique, par rapport au poids de pullulanne, le PVA ayant une viscosité de 11,8 cps et un indice de saponification de 98. La pellicule de 0,02 mm d'épaisseur, préparée à partir de cette solution, a une transparence de 93 %, un bon brillant et se dissout dans l'eau à 30°C en 18-20 s. Sa résistance à la traction est de $6,0 \text{ kg/mm}^2$, l'allongement à la rupture de 13 %, et la résistance au pliage de 720 cycles. On n'observe pas de changement notable des propriétés mécaniques après stockage pendant un mois à 60 % d'humidité relative.

EXEMPLE 12

35 On mélange une solution aqueuse à 5 % de pullulanne B à 80°C avec 50 % d'alcool polyvinylique soluble dans l'eau, par rapport au poids du pullulanne, le PVA ayant une viscosité de 27 cps et un indice de saponification de 98. On produit une solution homogène appropriée en 3 mn,

on chasse l'air de la solution et on la coule en une pellicule de 0,02 mm d'épaisseur comme décrit dans les exemples précédents et ayant des propriétés semblables.

- 5 Lorsque l'on incorpore dans la solution avant coulage 2 % de maltitol, par rapport au poids des ingrédients feuilligènes, on obtient une pellicule brillante, transparente, lisse.

EXEMPLE 13

- 10 On prépare un mélange intime et uniforme à partir de 4 parties en poids de poudre de pullulanne contenant 15 % d'humidité et 1 partie de gélatine (6 % d'humidité) ainsi que 0,5 % de maltitol, par rapport au poids total du pullulanne et de la gélatine. On prépare des plaques de 3 mm d'épaisseur à partir du mélange à 120°C dans une presse de laboratoire. Les plaques sont blanches, semi-opaques et résistantes à l'huile, mais
15 attaquées par l'eau.

EXEMPLE 14

- On prépare de manière semblable à l'exemple 2 un pullulanne C ayant un poids moléculaire légèrement inférieur à celui du pullulanne B et une viscosité inférieure, et on le dissout dans l'eau pour former une
20 solution fluide à 10 %. On prépare séparément une solution à 10 % d'amylose dans l'eau à partir d'amidon contenant 70 % d'amylose, dont une solution à 10 % est gélatinisée à 130°C puis hydrolysée à pH 4 au moyen d'isoamylase dérivée de Pseudomonas. Lorsque le mélange d'hydrolyse est refroidi, on précipite l'amylose et l'on utilise pour préparer la solution aqueuse chaude
25 à 10 % ; on mélange une partie de cette solution avec trois parties de la solution de pullulanne C. On ajoute 2 % de sorbitol par rapport au poids des ingrédients feuilligènes.

- La solution ainsi obtenue peut être pulvérisée dans un pistolet à air pour enduire des aliments frais, des produits pharmaceutiques et des particules d'enzyme, des aliments déshydratés et des produits oxydables
30 analogues avec une pellicule pratiquement imperméable à l'oxygène atmosphérique suffisamment résistante pour éviter l'endommagement mécanique des articles enduits. On forme des capsules solubles dans l'eau pour applications pharmaceutiques, à partir de la même solution, en plongeant dans la solution des tiges métalliques ayant des extrémités arrondies sphériques et en séchant
35 la pellicule liquide formée dans un courant d'air à 40°C.

EXEMPLE 15

On prépare de l'amylose comme décrit à l'exemple 9 et on le met en suspension dans une solution aqueuse de gélatine à 80°C en quantité égal au poids de la gélatine, et on ajoute suffisamment de pullulanne B humide à la suspension pour obtenir une proportion pullulanne/gélatine/amylose de 6:2:2, en poids de substances sèches. On agite le mélange à 100°C jusqu'à obtenir une solution homogène. On prépare des pellicules par coulage de la solution sur des plaques métalliques et en éliminant la majeure partie de l'eau présente dans un courant d'air à 50°C.

Les pellicules détachées des plaques métalliques sont transparentes et lisses, brillantes et se dissolvent facilement dans l'eau. Lorsqu'elles sont à l'équilibre d'humidité dans l'air ambiant, elles sont rigides et résilientes.

EXEMPLE 16

On mélange à 70°C 3 parties d'une solution aqueuse à 7 % de pullulanne A et 1 partie d'une solution à 20 % de gélatine. On chasse l'air du mélange qui contient des poids sensiblement égaux de pullulanne et de gélatine, et on prépare des capsules par le procédé décrit à l'exemple 14.

On prépare également des capsules à partir d'une solution à parties égales de pullulanne et de gélatine contenant en outre 1 % de maltitol, par rapport aux ingrédients feuillogènes. Les deux lots de capsules ont le module d'élasticité relativement élevé caractéristique des capsules pharmaceutiques couramment dénommées "capsules dures". Elles sont assez résistantes pour n'être pas déformées lorsqu'on les empile. Les capsules plastifiées présentent une résistance à la rupture encore plus grande que celles préparées à partir de pullulanne et de gélatine seuls.

EXEMPLE 17

On adsorbe des parties aliquotes de 10 g d'huile de sardine, d'acide oléique, et d'acide linoléique sur des quantités égales de terre de diatomée purifiée par traitement par l'eau régale, et on conditionne les échantillons ainsi obtenus dans des sacs identiques en pellicule de pullulanne de 0,05 mm d'épaisseur. Les pellicules sont fermées sous vide et stockées à 35°C. On extrait par le chloroforme le contenu des sacs immédiatement après fermeture et après 3 jours et 14 jours de stockage.

On détermine la détérioration des échantillons par oxydation à partir de la valeur de TBA (acide thio-2 barbiturique), les mesures de densité optique étant faites dans des conditions uniformes à 530 et 450 μ initialement, après 3 jours et après 14 jours, par détermination de l'indice de peroxyde initialement et après 3 jours et par mesure de la densité optique après 14 jours à 420 μ , longueur d'onde caractéristique du jaunissement. Les résultats obtenus sont rassemblés dans les tableaux I, II et II ci-après avec les résultats obtenus sur des échantillons témoins non protégés ou contenus dans des sacs en cellulose régénérée (cellophane) et en polyéthylène de 0,05 mm d'épaisseur.

Les résultats exprimés numériquement dans le tableau III confirment ceux de l'inspection visuelle. L'acide oléique apparaît blanc lorsqu'il est conservé dans des sacs en pullulanne ou en cellophane, faiblement jaune dans le polyéthylène ou sans protection. L'huile de sardine est faiblement jaune après stockage dans les sacs de pullulanne, plus fortement jaune après stockage dans les sacs de cellophane, et jaune profond ou brunâtre après stockage dans le polyéthylène ou sans protection.

EXEMPLE 18

On emballe des échantillons de 5 g de levure de pâtisserie dans des enveloppes de 30 mm x 50 mm, de pellicule de pullulanne de 0,05 mm d'épaisseur, et on soude les enveloppes sous vide. On place 20 enveloppes scellées dans un sac en polyéthylène scellé pour la protection contre l'humidité et on les conserve dans un incubateur pendant un mois à 35°C. On conserve dans le même incubateur des échantillons témoins scellés dans des enveloppes en pellicule de polyéthylène et un sac de polyéthylène courant.

On détermine l'activité de la levure avant et après stockage par la quantité de dioxyde de carbone dégagé à partir d'une solution à 3 % de saccharose. La levure conservée dans le pullulanne conserve 92 % de son activité initiale, celle conservée dans le polyéthylène ne présente que 40 % de son activité initiale après stockage.

On étudie de manière analogue des échantillons d'un détergent contenant une protéase alcaline, et on détermine l'activité de la protéase dans la matière initiale et dans l'échantillon après stockage pendant un mois à 35°C dans des enveloppes en pullulanne et en polyéthylène, respectivement. Les enveloppes en pullulanne empêchent une perte sensible de l'activité de protéase, tandis que les échantillons conservés dans le polyéthylène ont perdu 40 % de leur activité enzymatique initiale.

On scelle sous vide des échantillons de 1 g d'acide ascorbique et de riboflavine dans des enveloppes en pellicule de pullulanne de 20 mm x 30 mm, qui sont ensuite protégées par un sac en polyéthylène et on enferme des échantillons témoins dans des enveloppes en polyéthylène de même dimension et dans un sac extérieur en polyéthylène. Après chaque mois de stockage à 35°C, les échantillons de vitamine C ont encore 94 % et ceux de vitamine B₂ 96 % de leur activité initiale après stockage dans le pullulanne, tandis que l'activité des échantillons conservés dans le polyéthylène est tombée à 31 % et 45 % respectivement.

On protège avantageusement des composés médicinaux sensibles à l'oxydation en plaçant des doses individuelles dans une première feuille de pullulanne en rangées et en colonnes, en recouvrant la première feuille et la matière qui y est placée avec une seconde feuille de pullulanne, en soudant à chaud les deux feuilles l'une à l'autre, suivant une grille à dessin rectangulaire, et en découpant les feuilles suivant les soudures entre rangées et colonnes pour produire des doses individuelles scellées. Les enveloppes de pullulanne peuvent être ingérées avec leurs contenus, puisqu'elles sont solubles dans l'eau et non toxiques.

EXEMPLE 19

On emballe sous vide un mélange en poudre pour soupe en portion individuelle dans des enveloppes en pellicule de pullulanne de 0,05 mm d'épaisseur, et on enferme ensuite une douzaine de ces enveloppes dans un sac en polyéthylène pour les protéger contre l'humidité et l'attaque microbienne. Chaque enveloppe, jetée dans environ 236,6 ml d'eau chaude, produit une portion de soupe dans laquelle la pellicule de pullulanne ne contribue pas au goût ni à l'odeur, ni à toute autre propriété perceptible. Après stockage pendant 6 mois dans les conditions ambiantes, la soupe emballée dans le pullulanne a un parfum et une texture nettement supérieurs à ceux des mêmes échantillons emballés de manière classique.

On observe les mêmes effets avantageux d'une enveloppe de pullulanne avec des nouilles chinoises instantanées. On place les ingrédients mélangés, qui comprennent du Shiitake, un champignon comestible, des légumes et des crevettes, à plat sur une pellicule de pullulanne et on pulvérise ensuite avec une solution à 5 % de pullulanne, dont on élimine l'eau ensuite par un courant d'air à 50°C. La feuille laminaire ainsi produite est découpée en morceaux de dimensions convenables que l'on enferme dans un sac en polyéthylène et qui sont prêts à la cuisson lorsqu'on les retire du sac.

EXEMPLE 20

On emballe des plaques de beurre et de fromage de 1 cm x 3 cm x 3 cm dans une pellicule de pullulanne de 0,05 mm d'épaisseur, et on les conserve au réfrigérateur à 10°C conjointement avec des échantillons

5 témoins non protégés. Après un mois, on ne peut pas déceler de changement dans les échantillons emballés dans le pullulanne, sauf un léger séchage en surface des échantillons de fromage. Les échantillons de beurre non protégés présentent un changement de couleur faible, mais net, une odeur accrue d'acide butyrique et une détérioration notable du goût. L'indice

10 de peroxyde des échantillons de beurre emballés est de 20,3 milliéquivalents/kg, celui des échantillons non protégés est de 46,5 milliéquivalents/kg. Les échantillons de fromage non protégés présentent une détérioration faible mais nettement perceptible de leur goût, de leur odeur, de leur couleur et ils sont desséchés.

EXEMPLE 21

On pulvérise les pets-de-normes fraîchement préparés avec une solution de pullulanne et on sèche le revêtement ainsi formé à 60°C pendant 10 mm jusqu'à une épaisseur variant entre 0,05 et 0,1 mm. On place

20 plusieurs gâteaux revêtus, des gâteaux non revêtus dans des sacs en pullulanne et des témoins non revêtus dans des sacs de polyéthylène séparés et on les conserve à 35°C pendant une semaine. Les gâteaux protégés par un revêtement pulvérisé ou par un sac séparé en pullulanne ont conservé leur humidité et leur goût initiaux, et sont encore vendables, tandis que les témoins sont nettement rassis.

25 Le pullulanne est particulièrement efficace pour empêcher le rancissement de la graisse dans les articles cuits ou frits. Les biscuits frits et les graines d'arachide rôties dans le beurre conservent encore leur odeur fraîche et leur goût inchangé après stockage pendant 40 jours dans les conditions ambiantes dans des enveloppes de pellicule de pullulanne

30 de 0,03 mm d'épaisseur, protégées en outre par des sacs de polyéthylène, tandis que le rancissement est évident dans les témoins emballés dans deux couches de polyéthylène.

On pulvérise un maquereau frais avec une solution à 4 % de pullulanne contenant 3 % de glycérol par rapport au poids de pullulanne

35 et on place immédiatement le poisson pulvérisé dans un congélateur et on le conserve à -20°C. On prélève des échantillons du poisson enduit et d'un témoin non enduit après stockage pendant 3 mois, la solution de pullulanne

ayant formé une mince enveloppe gelée sur le poisson. L'enveloppe est assez résistante à l'enlèvement à la main, mais disparaît au contact de l'eau chaude. Le goût du poisson cuit, qui a été protégé dans le pullulanne, est nettement supérieur à celui du témoin et l'indice de peroxyde de la
5 peau des maquereaux enduits est notablement inférieur à celui déterminé sur le témoin.

EXEMPLE 22

On enduit des biscuits fraîchement préparés avec une pellicule mince de pullulanne par pulvérisation d'une solution à 3 % et séchage du
10 revêtement humide. On enferme un second lot dans des sacs en pullulanne et on utilise un troisième lot des mêmes biscuits comme témoin. Chaque lot est emballé dans un sac en polyéthylène et conservé pendant deux mois à 30°C dans une pièce maintenue à 60 % d'humidité relative.

Les biscuits protégés par le pullulanne conservent leur goût
15 frais, tandis que l'on note un certain rancissement dans les témoins. Les échantillons enduits, cependant, conservent leur forme pendant le stockage et les manipulations, tandis que les biscuits non enduits deviennent friables. La pellicule claire de pullulanne donne du brillant aux échantillons enduits mais n'est pas sensible pendant la consommation des biscuits.

EXEMPLE 23

On chauffe à la vapeur du jambon et des saucisses dans des enveloppes solubles dans l'eau et on les moule, après quoi on retire les enveloppes. Le lot est divisé en deux portions : l'une d'elles est pulvérisée uniformément avec une solution tiède à 5 % de pullulanne pour produire une pellicule ayant
25 une épaisseur d'environ 0,05 mm après séchage dans un courant d'air à 70°C. Les jambons et saucisses enduits ainsi que les témoins non protégés sont conservés à 5°C pendant trois mois sans qu'il y ait de fissures ou de troubles dans les pellicules de pullulanne sur les morceaux enduits.

On mesure la teneur en aldéhyde des échantillons enduits
30 et des témoins par la méthode TBA, et on ne trouve dans les produits enduits que 1/3 à 1/5 de la teneur en aldéhyde des témoins, ce qui indique la protection contre l'oxydation apportée par la mince pellicule de pullulanne.

EXEMPLE 24

On coupe en tranches des épinards fraîchement récoltés et
35 on le sèche par congélation à -20°C. On place des échantillons du produit sur une plaque métallique dans un évaporateur sous vide à 30°C et sous 180 mmHg et on les pulvérise avec une solution de pullulanne de telle manière que

les épinards séchés et la plaque soient enveloppés par une pellicule de pullulanne. Les épinards ainsi enduits sont encore protégés dans un sac en polyéthylène scellé. Par reconstitution après cinq mois, les épinards ont une couleur uniforme, un odeur et une saveur indiscernables de ceux des épinards reconstitués immédiatement après congélation.

Suivant un autre mode de mise en oeuvre, on découpe en tranches les épinards frais et on les pulvérise avec une solution à 3 % de pullulanne. On les sèche ensuite par congélation lorsqu'ils sont encore humides et on les enferme dans un sac en polyéthylène scellé. L'aspect, le goût et l'odeur des épinards reconstitués cinq mois après ne sont pas différents de ceux obtenus immédiatement après le séchage par congélation. La perte en vitamine pendant le stockage est seulement de 10 %.

EXEMPLE 25

On assaisonne du boeuf coupé en tranches d'une épaisseur de 5 à 10 mm et on le fait rôtir. On pulvérise les tranches rôties avec une solution chaude à 7 % de pullulanne à une épaisseur suffisante pour produire une pellicule sans trous d'épingle, et les tranches enduites sont immédiatement séchées par congélation. Des tranches témoins sont congelées immédiatement. On conserve des échantillons des tranches enduites et des témoins pendant 50 jours dans deux incubateurs à 35 et 65°C, respectivement.

On prélève des échantillons à intervalles de 10 jours et on les analyse pour déterminer l'oxydation de la graisse par détermination de l'indice d'acide, de l'indice de peroxyde et de la teneur en aldéhyde, cette dernière étant déterminée par mesure de la densité optique selon la méthode TBA. On prépare des extraits de la graisse en broyant un échantillon de 10 g dans un mortier et en triturant l'échantillon broyé avec 200 g d'un mélange chloroforme-méthanol 2:1 en volume. On sèche l'extrait et on l'évapore à 35°C sous vide. La teneur en humidité des échantillons enduits séchés par congélation est de 4 à 7 %, celle des échantillons témoins non enduits de 2 à 4 %. Les résultats des essais sur les produits conservés à 35 et 65°C sont rassemblés dans les tableaux IV et IV, respectivement.

Les valeurs numériques énumérées dans les tableaux IV et V sont confirmées par des tests subjectifs. On chauffe les échantillons dans un four électronique avec 10 % d'eau et on laisse reposer pendant 10 mn. On les fait ensuite goutter. Les revêtements de pullulanne sont dissous dans l'eau chaude et les échantillons protégés par une pellicule de pullulanne pendant le stockage sont trouvés nettement supérieurs en goût et parfum aux tranches non enduites.

Bien entendu, la description n'est pas limitative
et l'homme de l'art pourra y apporter des modifications sans sortir
pour cela du domaine de l'invention.

TABLEAU I

Valeur TBA (densité optique pour 0,1 g de graisse)

Valeur initiale	à 530 m μ		à 450 m μ	
	Acide oléique	Acide linoléique	Huile de sardine	Huile de sardine
	0,015	0,032	0,034	0,002
				0,007
				0,002
<u>Après 3 jours</u>				
dans le pullulanne	0,052	0,067	0,078	0,023
dans la cellophane	0,065	0,105	0,180	0,025
dans le polyéthylène	0,07	0,13	0,23	0,023
sans protection	0,07	0,2	1,925	0,023
<u>Après 14 jours</u>				
dans le pullulanne	0,13	0,13	1,28	0,03
dans la cellophane	0,91	2,30	2,50	0,33
dans le polyéthylène	1,25	1,15	2,51	0,31
sans protection	2,88	2,20	4,55	0,97
				0,014
				0,018
				0,25
				0,985
				0,04
				0,75
				0,21
				0,62
				0,038
				0,21
				0,31
				0,54
				0,057
				0,15
				1,20
				1,24

T A B L E A U IIIndice de peroxyde, milliéquivalents/kg

	<u>Acide oléique</u>	<u>Acide linoléique</u>	<u>Huile de sardine</u>
Valeur initiale	0,74	2,47	0,76
<u>Après 3 jours</u>			
dans le pullulanne	2,7	5,4	7,0
dans la cellophane	3,0	6,1	51,0
dans le polyéthylène	4,0	56,1	70,0
sans protection	8,0	199,5	119,0

T A B L E A U III

Jaunissement

Densité optique à 420 m μ après 14 jours

	<u>Acide oléique</u>	<u>Acide linoléique</u>	<u>Huile de sardine</u>
dans le pullulanne	0,07	0,20	0,22
dans la cellophane	0,10	0,23	0,25
dans le polyéthylène	0,15	0,25	0,52
sans protection	0,17	0,30	0,865

T A B L E A U IVEchantillons prélevés après stockage
à 35°C pendant

	0	10	20	30	50 jours
<u>Indiced'acide</u>					
tranches enduites	3,2	3,8	4,5	5,7	6,1
non enduites	3,3	5,5	8,9	11,1	15,8
<u>Indice de peroxyde</u>					
tranches enduites	15,2	16,0	15,7	16,1	20,2
non enduites	14,3	17,0	21,0	21,5	39,9
<u>teneur en aldéhyde</u> (valeur TBA)					
tranches enduites	0,13	0,21	0,35	0,75	0,78
non enduites	0,18	1,36	1,58	1,75	2,00

T A B L E A U V

Echantillons prélevés après stockage
à 65°C pendant

	0	10	20	30	50 jours
<u>Indice d'acide</u>					
tranches enduites	3,3	3,6	4,5	8,1	11,3
non enduites	3,8	8,3	19,5	33,1	45,5
<u>Indice de peroxyde</u>					
tranches enduites	17,3	150,1	320,0	350,0	210
non enduites	20,1	420,1	730	410,5	166
<u>Teneur en aldéhyde</u> (valeur TBA)					
tranches enduites	0,50	1,10	1,50	1,85	2,47
non enduites	0,60	1,50	1,92	2,75	3,64

R E V E N D I C A T I O N S

1. Article moulé, caractérisé en ce qu'il consiste essentiellement en pullulanne ou en un mélange uniforme de pullulanne et d'au
5 moins une substance choisie parmi l'amylose, l'alcool polyvinylique et la gélatine.
2. Article selon la revendication 1, caractérisé en ce que la quantité d'amylose est inférieure à 120 % du poids du pullulanne.
3. Article selon la revendication 1, caractérisé en ce que la
10 quantité d'alcool polyvinylique est inférieure à 100 % du poids du pullulanne.
4. Article selon la revendication 1, caractérisé en ce que la quantité de gélatine est inférieure à 150 % du poids du pullulanne.
5. Article selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il
15 contient en outre un polyalcool efficace comme plastifiant pour ledit pullulanne ou ledit mélange.
6. Article selon la revendication 5, caractérisé en ce que ledit polyalcool est le glycérol, le sorbitol ou le maltitol.
7. Article selon la revendication 6, caractérisé en ce que
20 la quantité dudit polyalcool est de 1 à 20 % du poids dudit article.
8. Article selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il a une longueur et une largeur très supérieures à son épaisseur.
9. Article selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il
25 consiste en une pellicule, une capsule, un tube, une feuille, une plaque, une fibre ou un récipient.
10. Procédé de fabrication de l'article selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'on dissout ledit pullulanne ou ledit mélange à base de pullulanne dans l'eau, on donne la forme désirée à la solution aqueuse ainsi produite et on élimine sensiblement l'eau de ladite solution.
- 30 11. Procédé de fabrication de l'article selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'on moule ledit pullulanne ou ledit mélange à base de pullulanne sous pression à une température supérieure à son point de ramollissement.
12. Procédé pour protéger contre la dégradation une matière
35 sensible à l'oxygène atmosphérique, caractérisé en ce que l'on enferme ladite matière dans une enveloppe scellée constituée par l'article selon la revendication 1.

13. Emballage caractérisé en ce qu'il consiste essentiellement en une matière sensible à l'oxygène atmosphérique enveloppée dans un article selon 1 a revendication 1.

14. Article selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il
- 5 consiste en une pellicule ayant une transparence supérieure à 90 % sous une épaisseur de 0,1 mm, une résistance à la traction qui n'est pas sensiblement inférieure à $6,0 \text{ kg/mm}^2$ et un allongement à la rupture d'au moins 8 % après stockage pendant 1 mois à 25°C et 60 % d'humidité relative.